

Recenzja pozytywna  
Prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska  
Prodziekan  
Wydziału Lekarskiego  
ds. Nauki

dr hab. n. med. i n. o zdr. Dominika Stygar  
Katedra i Zakład Fizjologii  
Wydział Nauk Medycznych w Zabrze  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego

prof. dr hab. Małgorzata Pawłowska

Zabrze, 20 maja 2023

## RECENZJA

### Rozprawy na stopień doktora nauk medycznych pani Anny Piórkowskiej

*pt.: Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, wybranych adipocytokin i  
wykładników stanu zapalnego a poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2*

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Karoliny Szewczyk-Golec, prof. UMK  
w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej, Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum  
w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

Rozprawa doktorska p. Anny Piórkowskiej liczy 199 stron, zawiera 51 rycin, 18 tabel oraz 377 pozycji piśmiennictwa, ma przy tym klasyczny układ dysertacji – składa się z następujących rozdziałów: Wykaz stosowanych skrótów, Wstęp, Cele pracy, Materiał i metody, Wyniki, Dyskusja, Wnioski, Streszczenie, Abstrakt, Piśmiennictwo, Spis tabel, Spis rycin, Kserokopia zgody Komisji Etyki.

W bardzo obszernym wstępie (str. 13-62) Autorka powołując się na aktualne piśmiennictwo przedstawia złożone zagadnienie zależności pomiędzy występowaniem niedoboru witaminy D a nieprawidłową tolerancją glukozy, zaburzeniami gospodarki lipidowej, nadwagą i otyłością oraz stanem zapalnym i cukrzycą. Autorka szczegółowo przybliżyła zagadnienie, opisując historię, epidemiologię i patofizjologię cukrzycy, insulinooporność, przewlekłe powikłania cukrzycy, czynniki ryzyka cukrzycy typu 2, w tym otyłość. Autorka wyróżnia ponadto wybrane adipokiny takie jak leptyna, rezystyna, wisfatyna, adiponektyna oraz interleukinę-6; witaminę D i równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną. Wstęp opatrzony jest 14 rycinami oraz dwoma tabelami. Podjęcie przez Doktorantkę klinicznego i praktycznego zbadania zależności między rozwojem cukrzycy a jej metabolicznym wyrównaniem cukrzycy typu 2 w relacji do czynników i wybranych biomarkerów uważam za ważny i zasadny. Każda dodatkowa analiza i wnioski

wyciągnięte z przeprowadzonych analiz mogą przyczynić się do rozwoju nowych dynamicznie zmieniających się warunków terapii i opieki nad pacjentami z niewyrównaną cukrzycą typu 2. Populacje krajów kultury zachodniej charakteryzuje powszechne zmniejszenie aktywności fizycznej, połączone z łatwym dostępem do gotowych do spożycia, wysokokalorycznych pokarmów o wysokiej zawartości tłuszczu i węglowodanów, co prowadzi do rozwoju chorób cywilizacyjnych. We wstępie Autorka analizuje powikłania cukrzycy. We wstępie brak informacji o kallistatynie, która podlegała analizie w pracy.

Założenia pracy przedstawione na stronach 62-64 zostały sformułowane czytelnie i precyzyjnie, uzasadniają podjęty cel pracy, którym było określenie możliwych zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, a także wybranych adipokin i parametrów związanych ze stanem zapalnym a ryzykiem rozwoju cukrzycy typu drugiego i poziomem jej metabolicznego wyrównania, a także określenie prawdopodobnych nowych wskaźników wyrównania glikemii, które mogłyby znaleźć zastosowanie w szczególności u osób z ograniczeniami w posługiwaniu się poziomem HbA1c.

Projekt badawczy posiada zgodę Komisji Bioetyki i został wykonany zgodnie z deklaracją Helsińską.

Badanie przeprowadzono w oparciu o analizę wybranych czynników w surowicy, parametrów antropometrycznych, wskaźnika BMI u 133 pacjentów podzielonych na 3 grupy badane: grupę chorych na cukrzycę typu 2 ( $n = 46$ ), grupę pacjentów otyłych ( $n = 30$ ), grupę pacjentów z nadwagą ( $n = 23$ ) oraz grupę kontrolną ( $n = 34$ ). W dziale Wyniki brak jest informacji dotyczącej powikłań cukrzycy w analizowanych grupach.

Wykonana i przedstawiona w dysertacji analiza statystyczna zawiera błędy i nieścisłości.

Ryciny 5, 6a i 6b zawierają te same informacje. Na rycinach przedstawionych na stronie 84 nie ma określonego procentowego odsetka w grupach badanych. Ryciny 28-31 przedstawiają histogramy wieku badanych w grupach. Podane są tam wartości: średnie i odchylenie standardowe, przy czym wyniki są ewidentnie lewostronne (lub prawostronne jak na Ryc. 31) zatem powinny zostać zaprezentowane jako mediana i kwartyle.

Tekst na stronie str. 90 informuje, że przy ocenie normalności rozkładu kierowano się również wartością skośności. Przedstawione wartości poniżej 1,00 wskazywały na niewielkie odchyły od rozkładu normalnego. Największą skośność (prawostronną) zaobserwowano dla IL-6, wisfatyny, kallistatyny, rezystyny i oxLDL (w przypadku tych zmiennych większość wartości była niższa niż średnie w rozkładach). Podobnie na stronie 94 w Tabeli 8.

Kolejno Autorka pisze o niewielkim odchyleniu od rozkładu normalnego. Powyżej 1 test Shapiro-Wilka dla HbA1C pokazuje  $p < 0,05$ , czyli brak normalności rozkładu stąd nie jasne jest co Autorka kwalifikuje na podstawie skośności 0,62. Zastosowane opisy statystyczne są nieprawidłowe na przykład „odchyły od rozkładu normalnego”.

W Tabeli 6, na stronie 92, prosiłabym o wyjaśnienie co oznaczają wartości zawarte w tabeli dla parametru IL-6. Wartości te przedstawione są jako  $< 0,38, < 0,38, < 0,38, < 0,38, < 0,38, < 0,38, < 0,38$ . Niejasne dla czytelnika jest dlaczego dla tak zapisanych danych statystyka testowa  $p$  w teście Shapiro-Wilka wyszła  $< 0,38$ ?

Podobnie na stronie 94, w Tabeli 8 widnieje zapis, że żadna z analiz nie była istotna statystycznie ( $p > 0,05$ ) – nie wykryto związku między HbA1c a melatoniną, witaminą D3, badanymi adipocytokinami oraz cytokinami stanu zapalnego. W tym przypadku poprawny zapis powinien zawierać informację o  $p >$  lub równe 0,05 zgodnie z założeniami przyjętymi w opisie statystyki. Zgodnie z warunkami testowania hipotez statystycznych brak związku pomiędzy cechami możemy wykazać tylko w sytuacji braku odrzucenia hipotezy zerowej. Co przy założonym poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  ma miejsce, gdy wartość statystyki testowej  $p \geq 0,05$ .

Na Rycinach 33-39 autorka zaprezentowała wykresy punktowe, poprawna nazwa to wykresy rozrzutu, dla zmiennych dla których w tabeli 9 stwierdzono korelacje. Niepoprawne jest umieszczanie na tych wykresach dopasowania liniowego, zwłaszcza, że związek był oceniany współczynnikiem tau-b Kendalla. Podobnie na Rycinie 51 nie powinno być linii sugerującej dopasowanie liniowe. Niejasne jest, dlaczego w analizach wybrano tau-B Kendalla, a nie korelację rang Spearmana, który jest testem alternatywnym dla rozkładów skośnych. Co więcej, współczynnik tau-b nie jest właściwy do określania regresji liniowej.

Na stronach 97, 98 Doktorantka przedstawia analizę korelacji, którą wykonano również dla wybranych parametrów względem BMI. Wartość  $p$  dla wszystkich par zmiennych wyniosła  $> 0,05$  – nie wykryto istotnych związków między BMI a zmiennymi w grupie pacjentów z cukrzycą typu 2 (Tabela 10). W tym przypadku poprawny zapis powinien być wyrażony jako  $p \geq 0,05$ .

W Tabeli 11 widoczny jest brak określenia liczebności grupy z nadciśnieniem i bez nadciśnienia. Podobnie w Tabeli 12. Uwaga generalna do przedstawionych wyników: zapis wartości  $p$  powinien odnosić się do założenia przyjętego w opisie statystyki czyli  $p >$  lub  $= 0,05$ . Wyniki istotności zapisywane są trzema lub czterema cyframi na prawo po przecinku. Zapis ten powinien być ujednolicony do trzech cyfr po przecinku.

W Tabeli 13 niejasne jest co oznacza zapis 1 w indeksie górnym przy wartości p. Zapis kwartyli powinien być w indeksie dolnym.

Tabela 16 jest nieczytelna dla odbiorcy. Trudno zrozumieć, dlaczego do porównania czterech grup stosowano test t-Studenta dla grup niezależnych. Wydaje się, że legenda do Tabeli 16 pochodzi z innej tabeli, gdyż nie można w treści tabeli znaleźć indeksów górnych W ani t.

Na Rycinach od 37 do 46 pojawia się nowa grupa: szczupli. Podpisy pod tabelami i rycinami nie spełniają kryterium samoobjaśnialności.

Autorka niewłaściwie zastosowała nomenklaturę dotyczącą rodzaju przedstawionego wykresu, jest to wykres typu box plot, (wykres pudełkowy, wykres typu ramka-wąsy) a nie wykres skrzynkowy. Dodatkowo na osiach jednostki są raz w nawiasach kwadratowych, raz bez nawiasów (Rycina 42) a czasami jak w przypadku Rycin 37-41 nie ma przedstawionych jednostek.

Brak jest jednoznacznej informacji, co oznaczają kropki na wykresach. Dane surowe sugerują, że na załączonych wykresach od 37 do 46 "wąsy" określają zakres wartości nieodstających, czyli dodatkowo powinny być zaznaczone na wykresach wartości odstające i ekstremalne. Informacja o oznaczeniu "wąsów" na wykresie powinna być umieszczona każdorazowo w podpisie ryciny bądź na legendzie.

Na polu warstwy estetycznej i prezentacyjnej przedstawiona rozprawa jest przygotowana niestarannie. Autorka zastosowała font bezszeryfowy, który jest stosowany do publikacji internetowych, nie mniej, niektóre schematy są przygotowane z udziałem fontu szeryfowego. W tekście pojawiają się wiszące spójniki, wiszące zdania oraz inne błędy mikro typograficznych w postaci braku lub nadmiernej spacji wokół znaków specjalnych lub interpunkcyjnych. W przypadku tabel brak jest konsekwentnego formatowania wyglądu tabeli. W przygotowaniu wykresów wielkość fontu opisów osi, ilość podziałek na osiach oraz ilość miejsc po przecinku na wartościach liczbowych, powinna być tak dobrana, aby zapewnić jak najlepszą czytelność. Podobne uwagi odnoszą się do schematów, rycin, z których część jest niewystarczającej rozdzielczości, aby w sposób czytelny prezentować treści. Jeśli chodzi o przygotowanie tabel, rycin, wykresów, schematów, jest brak odpowiednich podpisów. Należy pamiętać, że każdy element graficzny zawsze powinien spełniać zasadę samoobjaśnialności, tak aby oderwany od tekstu pracy był samowystarczający i pełnowartościowy. W pracy nagminnie używany jest język potoczny: określenie pacjentów jako cukrzycy, szczupli etc.

Chcę przy tym podkreślić, że wymienione w recenzji zastrzeżenia nie umniejszają wartości pracy Doktorantki, którą oceniam wysoko.

Z pozycji recenzenta przedstawiam następujące pytanie:

1. Prosiłabym o wyjaśnienie co oznaczają wartości zawarte w tabeli dla parametru IL-6. Wartości te przedstawione są jako  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ ,  $< 0,38$ . Niejasne dla czytelnika jest dlaczego dla tak zapisanych danych statystyka testowa  $p$  w teście Shapiro-Wilka wyszła  $< 0,38$ ?

W Dyskusji Doktorantka ustosunkowuje się do wyników własnych w odniesieniu do danych wcześniej opublikowanych. W tej części pracy Doktorantka trafnie uzasadnia wyniki własne, opierając interpretacje na dobrze dobranych dowodach naukowych. Potrafi krytycznie odnieść się do badania i do uzyskanych wyników wymieniając czynniki ograniczające wartość uzyskanych informacji.


Autorka rozprawy w oparciu o zgromadzone dane wykazała, że w niewyrównanej cukrzycy typu 2, której towarzyszy wiele patofizjologicznych zjawisk, takich jak otyłość, nadwaga, schorzenia sercowo-naczyniowe, retinopatia, neuropatia gdzie szczególnie ważna jest analiza czynników uczestniczących w rozwoju choroby podstawowej, jak i chorób towarzyszących. Autorka wykazała, że rola patologicznie zaburzonych profili adipokin, metioniny, witaminy D, wybranych markerów stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego w różnych stanach patofizjologicznych powinna być rozumiana systematycznie, aby dostarczyć wskazówek do diagnozowania, przewidywania i leczenia tak trudnego schorzenia jakim jest cukrzyca typu 2. Homeostaza układu pro- i antyoksydacyjnego jest bardzo ściśle regulowanym procesem, w którym różne nieenzymatyczne i enzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne regulują jej produkcję. Wszelkie zakłócenia w tym mechanizmie regulacyjnym mogą prowadzić do zwiększenia stresu oksydacyjnego, który pogarsza składniki komórkowe i prowadzi do rozwoju chorób, w tym cukrzycy typu 2. Wzajemne powiązania między czynnikami stresu oksydacyjnego a rozwojem cukrzycy typu 2 i jego złożonością są kluczowymi czynnikami odpowiedzialnymi za upośledzenie wydzielania i działania insuliny, wywołując tym samym hiperglikemię. Wiadomo, że hiperglikemia indukuje produkcję reaktywnych form tlenu poprzez różne szlaki sygnałowe. Zatem badania podstawowe oraz interwencje terapeutyczne ukierunkowane na wysoki poziom glukozy, a także mechanizmy i enzymy zaangażowane

w analizę stanu oksydacyjnego oraz zapalnego wydają się być obiecującą strategią leczenia cukrzycy typu 2 i jej powikłań.

Podsumowując stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny **rozprawa doktorska p. Anny Piórkowskiej** pt. *Ocena zależności między stężeniem melatoniny, witaminy D, wybranych adipocytokin i wykładników stanu zapalnego a poziomem metabolicznego wyrównania cukrzycy typu 2* wykonana w Katedrze Biologii i Biochemii Medycznej, Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu pod opieką Pani Promotor - dr hab. Karoliny Szewczyk-Golec, prof. UMK **spełnia kryteria stawiane rozprawom na stopień naukowy doktora**, zdefiniowane w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1668 ze zm.). **Dysertacja pani Anny Piórkowskiej prezentuje adekwatną wiedzę teoretyczną Doktorantki w wybranej przez nią dyscyplinie oraz jej umiejętności prowadzenia pracy naukowej – recenzja jest zatem pozytywna.**

W związku z powyższym mam zaszczyt przedłożyć Wysokiej Radzie Dyscypliny Nauk Medycznych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu wnioszek o dopuszczenie p. Anny Piórkowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Zabrze 20.05.2023

  
ADIUNKT  
Katedry i Zakładu Fizjologii  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
dr hab. n. med. Dominika Stygar